台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 72(1):25–37 (2023)
DOI:10.6156/JTAR.202303_72(1).0003

研究報告

由 *Colletotrichum orchidophilum* 引起的蛾形文心蘭炭疽病

蘇俊峯[1] 賴佩鴻[2] 簡蘭懿[2] 黃晉興[3] 林宗俊[1] 謝廷芳[4,*]

摘要

蘇俊峯、賴佩鴻、簡蘭懿、黃晉興、林宗俊、謝廷芳。2023。由 *Colletotrichum orchidophilum* 引起的蛾形文心蘭炭疽病。台灣農業研究 72(1):25–37。

南投縣埔里鎮的盆栽蛾形文心蘭 Alba 品種 (*Psychopsis kalihii*, 'Green Valley') 與 'Mountain' 品種 (*Psych. mariposa*) 於 2012 年 2 月與 7 月發生一種新病害，罹病株葉片與葉鞘出現圓形到不規則形的黑色病斑，發病率介於 42–63% 之間。病原菌分離株在減糖 1/2 的馬鈴薯葡萄糖瓊脂平板培養基上，菌落呈灰色至黑色，並有橙色孢子堆產生。分生孢子呈圓柱形，大小介於 2–2.5 µm × 9.9–22.3 µm。依科霍氏法則 (Koch's postulates) 完成病原性測定後，挑選供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4，輔以 internally transcribed spacer (ITS) 序列比對，鑑定引起蛾形文心蘭炭疽病的病原真菌為 *Colletotrichum orchidophilum* Damm, Cannon & Crous。本病原菌菌絲最適生長溫度為 20–24℃，生長速度介於 5.1–5.6 mm day^{-1}，最適發病溫度介於 16–28℃之間。

關鍵詞：蛾形文心蘭、*Colletotrichum orchidophilum*、炭疽病。

前言

文心蘭 (*Oncidium*) 為複莖地生蘭或著生蘭，花朵盛開時宛如一群少女婆娑起舞又名跳舞蘭。原生種大約有 700 多種，主要分布於熱帶美洲，分布之地域生態環境可從高海拔之高冷地到海岸沿線，因此各原生種之生態習性變化很大 (Lin 2005)。雖然文心蘭原生種有 700 種以上，但是可作為切花的商業品種不多，以黃色唇瓣品種為主流，過去以南西 (*Onc*. Gower Ramsey) 為大宗，近年來台灣文心蘭切花品種逐漸被檸檬綠 (*Onc*. Honey Angel) 所取代。文心蘭切花以外銷日本為主，輸出量約 2,276–2,500 萬枝 (Yih 2012)，根據行政院農業委員會農產貿易統計資料庫查詢 (https://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/maintenance/Announce.aspx)，切花文心蘭 2011–2021 年外銷日本金額介於新台幣 3.4–5.2 億元。而盆花商業品種較多，但交易量不大，主要栽培品種有香水文心 (*Onc*. Sharry Baby)、蜜糖皇帝 (*Onc*. Sweet Sugar Emperor) 及蜜糖天使 (*Onc*. Sweet Sugar Angel) 等。近年來台灣盆花品種已開始外銷，但出口的貨物品質仍有改善的空間 (Lin 2005)。根據行政院農業委員會農產貿易統計資料庫查詢，台灣盆花文心蘭 2011–2021 年的外銷金額介於新台幣 400–1,200 萬元。

由於文心蘭在台灣多以網室或塑膠布溫室栽培，品質受環境與病害影響甚鉅。台灣已記錄的文心蘭病害包括疫病 (病原菌 *Phytophthora palmivora*) (Ann 1995)、花瓣斑點病 (病原菌 *Bipolaris zizaniae*) (Hsieh *et al*. 2000)、細菌性軟腐病 [主要病原菌有 *Pectobacterium chrysanthemi* (Lin *et al*. 2015) 與 *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovorum* (Su & Leu 1992)]、蕙蘭嵌紋病毒 [由 *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) 引起] (Hsieh & Han 1975) 與

投稿日期：2022 年 5 月 26 日；接受日期：2022 年 10 月 14 日。
[*] 通訊作者：tfhsieh@tari.gov.tw
[1] 農委會農業試驗所植物病理組助理研究員。台灣 台中市。
[2] 農委會農業試驗所植物病理組計畫助理。台灣 台中市。
[3] 農委會農業試驗所植物病理組副研究員。台灣 台中市。
[4] 農委會農業試驗所研究員兼主任秘書。台灣 台中市。

齒舌蘭輪斑病毒 [由 *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) 引起] (Chang *et al*. 1999) 等。另外台灣植物病害名彙 (Tzean *et al*. 2019) 有記載文心蘭炭疽病 (病原菌 *Colletotrichum gloeosporioides*) 與由疫病菌 (*Phytophthora nicotianae*) 所造成文心蘭葉片與假球莖腐敗，以及 *Fusarium proliferatum* 可在文心蘭葉片上造成黑色細斑的病徵。西元 2012 年 2 月於南投縣埔里地區花農所栽種的蛾形文心蘭 (*Psychopsis kalihii*, 'Green Valley' Alba 與 *Psych. mariposa*, 'Mountain')，其葉基部出現有黑色不規則的病斑，花農多誤以為「黑頭」。「黑頭」為蝴蝶蘭黃葉病之俗稱，病原菌為 *Fusarium solani*，有性世代為 *Nectria haematococca* (Su *et al*. 2012)。因此，花農多利用一般防治鐮孢菌病害的策略防治本病害 (Hsieh *et al*. 2005)，但是防治效果不明顯。有鑑於此，本研究主要目的在鑑定此文心蘭的新型病害，以提供農民正確病害資訊，俾利於採行正確的防治方法。

材料與方法

田間病害調查、病原菌分離及型態鑑定

西元 2012 年 2 月與 7 月，於南投縣埔里鎮一處文心蘭盆花園內，調查植株葉片或葉基部是否有發生黑色不規則病斑的情形，並調查發病率。調查時，若植株有一片葉片以上或其他部位已呈現明顯黑色不規則病斑，即視為發病，並計算發病率 (disease incidence, %)，計算方式為 (發病株數/調查總株數) × 100 (%)。另採回 18 株罹病植株於實驗室進行可疑病原菌分離。由田間採回之罹病株，以消毒過之解剖刀切取 1 cm^2 的罹病組織片段，該組織片段經 5.25% 的次氯酸鈉 (sodium hypochloride) 表面消毒 10 s 後，以無菌水漂洗一次，再用清潔之衛生紙吸乾組織片段表面的無菌水，最後將其置於 2% 的水瓊脂培養基 (2% water agar, WA) 上。隨後將培養基置於室溫下 4–5 d，待有菌絲自組織片段周圍長出時，於顯微鏡 (CH40RF100, Olympus, Tokyo, Japan) 下初步鏡檢孢子型態，計算同一菌落型態分離株的分離率 (%)，計算方式為 (所分離得到同一菌落個數/總分離個數) × 100 (%)。之後，切取菌絲尖端培養於馬鈴薯葡萄糖瓊脂平板培養基 [potato dextrose agar (PDA); BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA] 中，於室溫下培養。進行形態學觀察時，以移植環沾取 PDA 部分分生孢子，並於 2% WA 平板培養基上畫線培養，經 12 h 後，將該分離株單孢培養於 PDA 與減糖 1/2 的 PDA [1/2 sucrose potato dextrose agar (1/2 SPDA); BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA] 斜面試管培養基中 7–10 d，觀察菌落型態。若單孢培養於 2% WA 上 3–5 d，則以光學顯微鏡 (CH40RF100, Olympus, Tokyo, Japan) 鏡檢、觀察該些分離株的孢子型態與大小，再參考 Sutton (1980) 所描述的不完全真菌孢子著生方式與型態，鑑定所分離之菌株。

病原性測定

由田間罹病株罹病部位分離得到之可疑病原微生物分離株，挑選其中之 TJP-1537-2、TJP-1537-4、PA-01、PB-05、PM-01 與 PM-02 等 6 株為供試菌株，並以無菌水為對照組。供試菌株經單孢培養於 1/2 SPDA 斜面試管中生長 14 d 後，於該培養試管中加入 9 mL 無菌水，利用移植環輕輕刮取菌落表面，使該懸浮液經 4 層滅菌後之紗布過濾後，震盪混合均勻，於光學顯微鏡下，利用血球計數器 (Haemacytometers, Paul Marienfeld, Lauda-Königshofen, Germany) 計算單位體積的孢子數，並換算為孢子懸浮液的濃度，再利用無菌水調整孢子懸浮液濃度至 1–4 × 10^5 spores mL^{-1}。供試植株為購自南投縣農家之蛾形文心蘭 (*Psychopsis kalihii*, 'Green Valley' Alba 及 *Psych. mariposa*, 'Mountain')，株齡約 3–4 年。利用消毒過之解剖刀，將供試植株新葉切成 3 × 3 cm^2 的離葉組織片段，該些離葉組織塊上、下表面先用 75% 酒精進行表面消毒。取消毒過之鋼珠 (直徑 5 mm) 於供試植株離葉組織片段葉背摩擦畫圓，製造一個直徑 8 mm 的圓形壓痕，將 40 μL 的供試菌株孢子懸浮液滴置於該圓形壓痕上，即完成鋼珠摩擦接種 (steel ball rub inoculation)，另以無製造圓形壓痕之離葉組織片段為對照組。接種後的離葉組織片段需放置於 9 cm 玻璃培養皿內，並於培養皿內放置一直徑 1 cm 的濕棉花球。每供試菌株

接種 5 塊離葉組織片段，並以無菌水為對照組，每天觀察記錄離葉組織發病的情形，並調查發病度。將完成接種後之罹病部位，於實驗室進行病原菌的再分離，用以完成科霍氏法則 (Koch's postulates) 測試。發病度調查時區分為 0–3 級：0 級表接種部位健康；1 級表接種部位開始出現黑色病斑；2 級表黑色病斑擴大，但直徑小於 8 mm；3 級表黑色病斑擴大，且直徑大於 8 mm。所得之罹病度 (0–3 級) 資料，再換算為發病度 (disease severity)。發病度 = Σ Rn Tn/3N。Rn 代表罹病級數；Tn 代表該罹病級株數；N 代表接種株數。

文心蘭炭疽病菌的分子鑑定

根據病原性測定結果，選取具病原性之 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 供試菌株，單孢培養於 PDA 培養基平板上 7 d (室溫 26–28℃，12 h 光照)，將其送交核酸定序公司 (明欣生物科技有限公司，台灣台北市) 進行 DNA 萃取 (其參考 Qiagen DNeasy Plant Kit 進行) 與 polymerase chain reaction (PCR) 增幅與定序 (其以 ITS5&ITS4 與 ITS1&ITS4 當引子)，定序後之序列再以National Center for Biotechnology Information (NCBI) 網站上所登錄之資料庫進行菌株序列分析比對。繼之，所得之菌株序列並上傳至 NCBI 資料庫，以取得 GenBank accession number。

植株葉片與離葉組織片段接種對文心蘭炭疽病發病度的影響

將 40 μL 的供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4的孢子懸浮液 (1–4 × 10^5 spores mL^{-1})，利用鋼珠摩擦接種法接種於供試植株 'Mountain' 的新葉部位，接種部位先以 75% 酒精進行表面消毒，每處理 6 重複，並以無菌水為對照組。接種後之供試植株外面再套上一個透明塑膠袋保濕 [使 relative humidity (RH) 100%]，置於溫室 (22–32℃)，觀察病害發生情形。另一處理則將供試菌株利用鋼珠摩擦接種法接種在 'Mountain' 新葉所切成的 3 × 3 cm^2 離葉組織片段上，接種後之離葉組織片段放置於 9 cm 玻璃培養皿內，培養皿內並放置一直徑 1 cm 的濕棉花球保濕，置於實驗室室溫下。接種後每 3 天觀察、依前述方法記錄供試植株的發病度。

炭疽病菌接種源濃度對炭疽病發病度的影響

將供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 的孢子懸浮液 (1–4 × 10^5 spores mL^{-1}) 系列稀釋為 10^1、10^2、10^3、10^4、10^5，分別將 40 μL 不同接種源濃度的孢子懸浮液，利用鋼珠摩擦接種法接種於供試植株 Alba 與 'Mountain' 新葉所切成的 3 × 3 cm^2 離葉組織片段上，接種部位先以 75% 酒精進行表面消毒，每處理 5 重複，並以無菌水為對照組。接種後之離葉組織片段放置於 9 cm 玻璃培養皿內，培養皿內並放置一直徑 1 cm 的濕棉花球保濕，置於實驗室室溫下。接種後第 3 天觀察、依前述方法記錄供試植株的發病度。

溫度對文心蘭炭疽病菌菌絲生長的影響

將供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 以移植環沾取部分分生孢子，並於 2% WA 平板培養基上畫線培養，經 12 h 後，單孢培養於 PDA 培養基平板上 3–5 d，以 8 mm 打孔器切取菌落周圍菌絲，將含菌絲面之菌絲塊貼置於新配製之 PDA 平板培養基之中央。隨即將 PDA 平板培養基分別放置於 8、12、16、20、24、28、32 及 36℃定溫箱中，每個溫度處理放置 5 個培養皿，每天觀察菌絲生長的情形，量取菌落直徑，並換算菌絲生長速度。

溫度對文心蘭炭疽病發病度的影響

將 40 μL 的供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4的孢子懸浮液 (1–4 × 10^5 spores mL^{-1})，利用鋼珠摩擦接種法接種於供試植株 Alba 與 'Mountain' 新葉所切成的 3 × 3 cm^2 離葉組織片段上，接種部位先以 75% 酒精進行表面消毒。接種後之離葉組織片段放置於 9 cm 玻璃培養皿內，培養皿內並放置一直徑 1 cm 的濕棉花球保濕，培養皿分別放置於 8、12、16、20、24、28、32 及 36℃定溫箱中，每處理 5 重複，並以無菌水為對照組。接種後第 3 與 6 天觀察、記錄供試植株的發病度。

資料統計分析

接種後所得發病度資料利用 IBM SPSS Statistics (version 19) 統計分析軟體進行變方分析 (analysis of variance; ANOVA) 與最小顯著差異性 (least significant difference; LSD; $P = 0.05$) 測驗。另部分結果進行相關係數 (Pearson correlation coefficient; c.c.) 與回歸分析 (regression analysis)。

結果

田間病害調查、病原菌分離及型態鑑定

西元 2012 年 2 月與 7 月於南投縣埔里鎮農民所栽種的蛾形文心蘭盆花 Alba (*Psychopsis kalihii*, 'Green Valley') 與 'Mountain' (*Psych. mariposa*)，其葉片 (圖 1A) 與葉鞘 (圖 1B) 上出現圓形至不規則形的黑色病斑，發病率介於 42–63% 之間。由田間採集 18 株罹病植株，於實驗室進行病原菌分離，結果在 WA 平板培養基上罹病組織部位可分離得到同一菌落型態的分離株，分離率為 79%，根據 Sutton (1980) 所描述初步鑑定該些分離株為 *Colletotrichum* 屬的真菌。挑選部分分離株培養在 PDA 與 1/2 SPDA 斜面培養基上，該些分離株的菌落呈灰色至黑色，而且在 1/2 SPDA 培養基上容易有橙色孢子堆產生 (圖 1C)。再以光學顯微鏡進行形態學觀察，分生孢子著生於分生孢子梗頂端，呈圓柱形，大小介於 9.9–22.3 µm × 2–2.5 µm，平均大小為 14.1 µm × 2.5 µm (圖 1D)。根據 Damm *et al*. (2012) 所描述，鑑定該些分離株為 *Colletotrichum orchidophilum Damm*, Cannon & Crous。

炭疽病菌孢子懸浮液於文心蘭離葉組織的病原性測定

六株供試菌株 TJP-1537-2、TJP-1537-4、PA-01、PB-05、PM-01 及 PM-02，利用鋼珠摩擦接種法將其孢子懸浮液接種在供試植株 Alba 的離葉組織塊上，接種後 3 d，供試植株的發病度 (0–3) 介於 0.8–2.4 之間，而接種無菌水者 (對照組) 則不發病，發病度為 0。其中 4 株供試菌株 TJP-1537-2、TJP-1537-4、PA-01 及 PM-01 的發病度皆大於 1.8，與對照組的發病度具有顯著之差異性 ($P < 0.05$)。若將供試菌株接種於 'Mountain' 供試植株，接種 3 d 後供試植株的發病度介於 1.8–3.0 之間，而對照組亦不發病，發病度為 0。其中除 PM-01 外，其餘供試菌株的發病度皆大於 2.4，與對照組的發病度具有顯著之差異性 ($P < 0.05$)。另外，將供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 孢子懸浮液和無菌水，接種在無製造圓形壓痕之離葉組織塊上，接種 3 d 後，供試植株皆不發病 (表 1)。在供試的 3 × 3 cm^2 離葉組織片段接種後，產生與田間罹病株相同的黑色病斑 (圖 1E)，再由接種後之罹病部位，皆可再分離得到該病原菌，完成科霍氏法則。

文心蘭炭疽病菌之分子鑑定

利用分子生物技術鑑定供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4，結果 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 菌株的 ITS 序列分別與 NCBI 資料庫的 *C. orchidophilum* JQ948153.1 與 JQ948154.1 (GenBank accession number) 達 100% 相似度，佐證此兩供試菌株皆為 *C. orchidophilum*。繼之，將供試菌株 TJP-1537-2 DNA 序列登錄於 NCBI 資料庫，其 GenBank accession number 為 ON387502。

植株葉片與離葉組織片段接種對文心蘭炭疽病發病度的影響

供試植株 'Mountain' 的新葉部位接種供試菌株 TJP-1537-2 的孢子懸浮液後第 3 與 6 天，其發病度分別為 1.5 與 1.7，而接種 TJP-1537-4 者則為 2 與 2.2，對照組則不發病。若將供試菌株 TJP-1537-2 接種於供試植株的離葉組織片段上，接種後第 3 與 6 天，其發病度為 1.2 與 3，而接種 TJP-1537-4 者則為 1 與 3，對照組亦不發病。供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4，分別接種於供試植株葉片與離葉組織片段上，接種葉片與離葉組織片段的相關係數分別為 0.86 與 0.81，兩者呈高度相關性 (圖 2)。

炭疽病菌接種源濃度對植株發病度的影響

將供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 不同接種源濃度的孢子懸浮液，接種於供試植

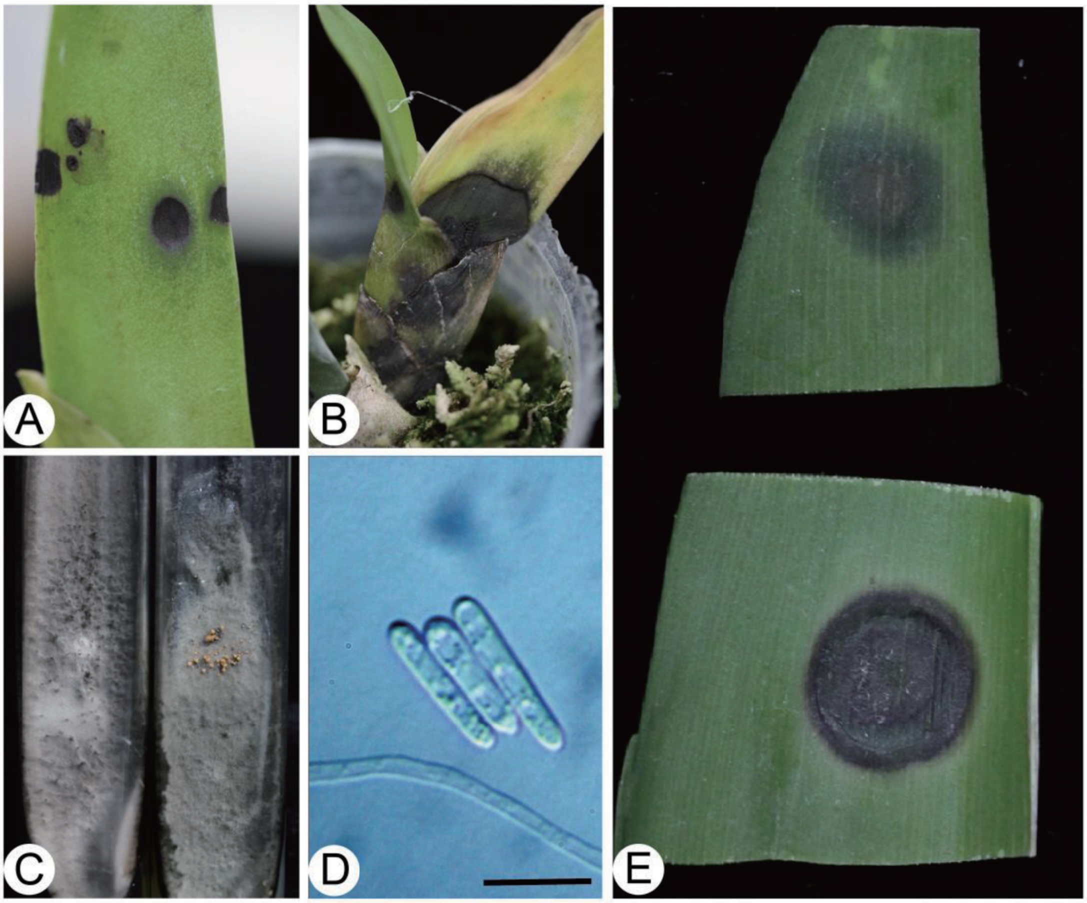

圖 1. 文心蘭炭疽病病徵與病原菌型態。文心蘭罹病 (A) 葉片與 (B) 葉鞘表現圓形到不規則形的黑色病斑；炭疽病菌在 (C 左) 馬鈴薯葡萄糖瓊脂平板培養基 (potato dextrose agar; PDA) 與 (C 右) 減糖 1/2 的 PDA (1/2 sucrose potato dextrose agar; 1/2 SPDA) 培養基上之菌落呈灰色至黑色，在 1/2 SPDA 培養基上容易有橙色孢子堆產生，病原菌孢子呈圓柱形，大小介於 (D) 9.9–22.3 μm × 2–2.5 μm。在供試 2 的 3 × 3 cm^2 離葉組織片段接種後，產生與田間罹病株相同的 (E) 黑色病斑。

Fig. 1. The symptoms of *Oncidium* anthracnose diseased and morphology of causal agent. Diseased (A) leaf and (B) sheath showed black spot with circular to irregular shapes caused by *Colletotrichum orchidophilum*. Pathogen colony showed gray to black on (C, left slant) potato dextrose agar (PDA) and (C, right slant) 1/2 sucrose potato dextrose agar (1/2 SPDA) with abundant pinkish sori. The conidia are cylindrical with the size of (D) 9.9–22.3 μm × 2–2.5 μm (bar = 10 μm). The 3 × 3 cm^2 leaf tissue fragments resulted in (E) the same black spot symptom as the diseased plants in the field after inoculation test.

株 Alba 與 ‘Mountain’ 的離葉組織片段上，接種後第 3 天後結果顯示隨 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 的接種源濃度增加，供試植株的發病度 (0–3) 亦隨之增加。其中當接種源濃度高於 10^3 spores mL^{-1} 時，供試植株 Alba 的發病度皆高於 2.2，而當接種源濃度高於 10^4 spores mL^{-1} 時，供試植株 ‘Mountain’ 的發病度皆高於 2.8 (圖 3)。

溫度對文心蘭炭疽病菌菌絲生長的影響

將供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 菌絲塊置於新配置之 PDA 培養基平板之中央，放置於不同溫度之定溫箱中，7 d 後調查之結果顯示供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 的菌絲最適生長溫度介於 20–24℃，菌絲生長速度介於 5.1–5.6 mm day^{-1}。隨著溫度的增加或

表 1. 炭疽病菌孢子懸浮液接種於文心蘭離葉組織的病原性測定。

Table 1. Pathogenicity test of *Colletotrichum* sp. isolates from *Oncidium* by spore suspension inoculation on detached leaf fragment of *Oncidium*.

Isolate	8-mm indentation on leaf fragment[z]	Disease severity (0–3)[y]	
		Alba (*Psychopsis kalihii*)	'Mountain' (*Psych. mariposa*)
Water (CK)	No	0.0 a[x]	0.0 a
TJP-1537-2	No	0.0 a	0.0 a
TJP-1537-4	No	0.0 a	0.0 a
Water (CK)	Yes	0.0 a	0.0 a
TJP-1537-2	Yes	1.8 cd	3.0 c
TJP-1537-4	Yes	2.0 cd	2.6 c
PA-01	Yes	2.4 cd	2.8 c
PB-05	Yes	0.8 a	2.4 bc
PM-01	Yes	2.0 cd	1.8 b
PM-02	Yes	1.2 bc	2.4 bc

[z] Each isolate was inoculated on 5 detached leaf fragments, and an 8-mm indentation was made on those fragments by steel ball after rubbing. Data were recorded at the 3rd day after inoculation.

[y] The disease severities were assayed on a scale of 0–3: 0 = healthy; 1 = black spot on inoculated tissue; 2 = the diameter of black spot extending less than 8-mm; 3 = the diameter of black spot extending more than 8-mm.

[x] Values followed by the same letter in each column are not significantly different at $P > 0.05$ according to least significant difference (LSD) test.

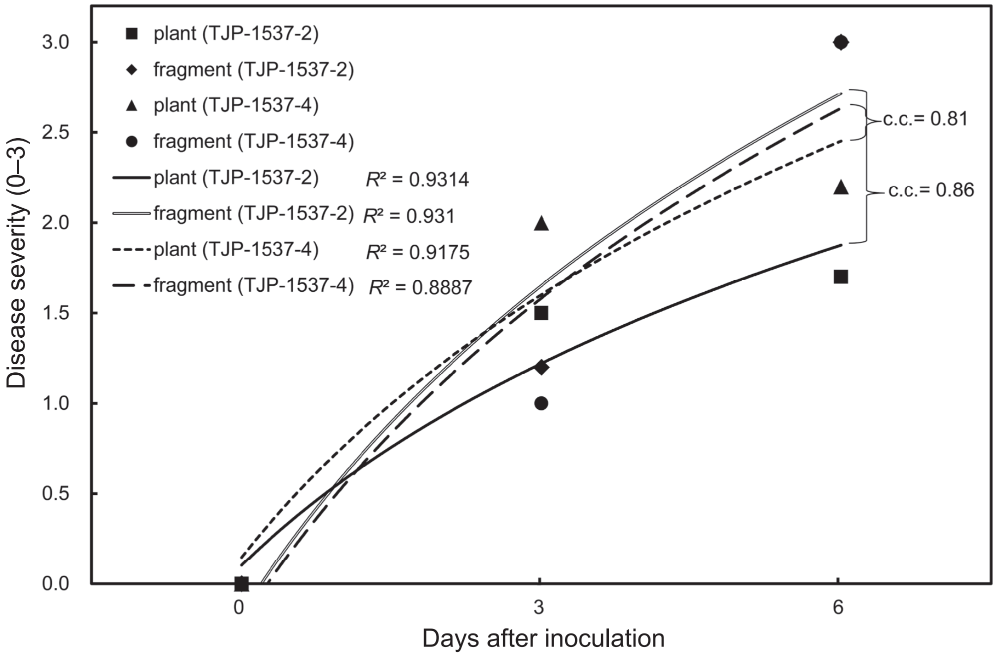

圖 2. 植株葉片與離葉組織片段接種對文心蘭炭疽病發病度的影響。

Fig. 2. Effect of inoculation methods with plant leaf and detached leaf fragment on disease severity of anthracnose caused by *Colletotrichum orchidophilum* TJP-1537-2 and TJP-1537-4. "c.c." indicated Pearson correlation coefficient of disease severities between inoculation of plant leaves and detached leaf fragments.

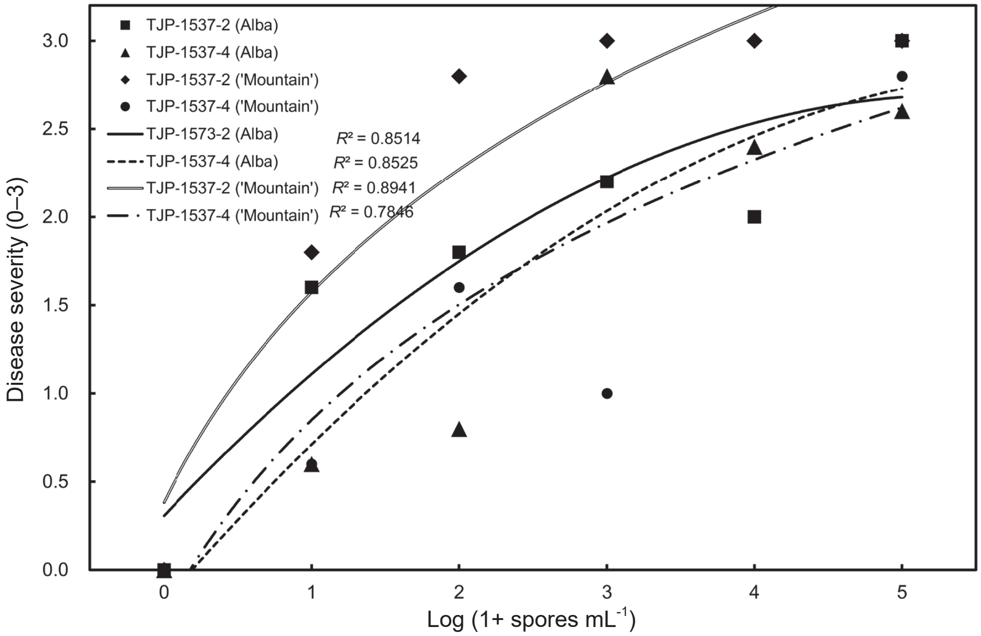

圖 3. 炭疽病菌接種源濃度對植株發病度的影響。

Fig. 3. Effect of inoculum concentration on disease severity of *Oncidium* anthracnose caused by *Colletotrichum orchidophilum* TJP-1537-2 and TJP-1537-4 with the detached leaf fragment method.

降低，菌絲生長速度則隨之遞減，在 8℃時菌絲生長速度介於 1–1.5 mm day^{-1}，但溫度高於 32℃時，菌絲即無法生長 (圖 4)。

溫度對文心蘭炭疽病發病度的影響

將供試菌株 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 的孢子懸浮液接種於供試植株 Alba 與 ‘Mountain’ 的離葉組織片段上，分別放置於 8、12、16、20、24、28、32 及 36℃定溫箱中。接種後第 3 天結果顯示，當溫度為 24℃與 28℃時，供試植株 Alba 的發病度 (0–3) 皆高於 1.8。當溫度介於 20℃與 28℃之間時，供試植株 ‘Mountain’ 的發病度皆高於 2.4。在此溫度範圍外，隨著溫度的增加或降低，供試植株的發病度則隨之遞減，在低於 12℃與 36℃時，供試植株發病輕微或幾乎不發病，發病度小於 1 (圖 5)。接種後第 6 天結果顯示，當溫度介於 16℃與 28℃時，供試植株 Alba 的發病度皆高於 2.4，供試植株 ‘Mountain’ 的發病度則皆高於 2.6。在此溫度範圍外，隨著溫度的增加或降低，供試植株的發病度則隨之遞減，在低於 12℃與高於 32℃時，發病度小於 1.6 (圖 6)。

討論

刺盤孢屬 (*Colletotrichum* spp.) 真菌屬於腔孢菌綱 (Coelomyctes)，可危害超過 1,000 種的植物並導致炭疽病 (anthracnose) 的發生 (Moriwaki *et al*. 2002)，常見的如草莓炭疽病 (病原菌包括有 *C. acutatum*、*C. gloeosporioides* 與 *C. dematium*) (Howard *et al*. 1992)、檬果炭疽病 (病原菌為 *C. gloeosporioides*) (Kefialew & Ayalew 2008) 及香蕉炭疽病 (病原菌為 *Colletotrichum musae*) (Su *et al*. 2011) 等。在分類上，過去 *Colletotrichum* spp. 的種類可能包括有幾百種，但是 Sutton (1980, 1992) 根據 *Colletotrichum* 的菌落培養特性、分生孢子形態大小、附著器的形態及寄主範圍病原性測定等，將其僅區分為 38 種 (species)、一個變種 (variety) 及 8 個具寄主專一性的分化型 (formae specialis)。而常見

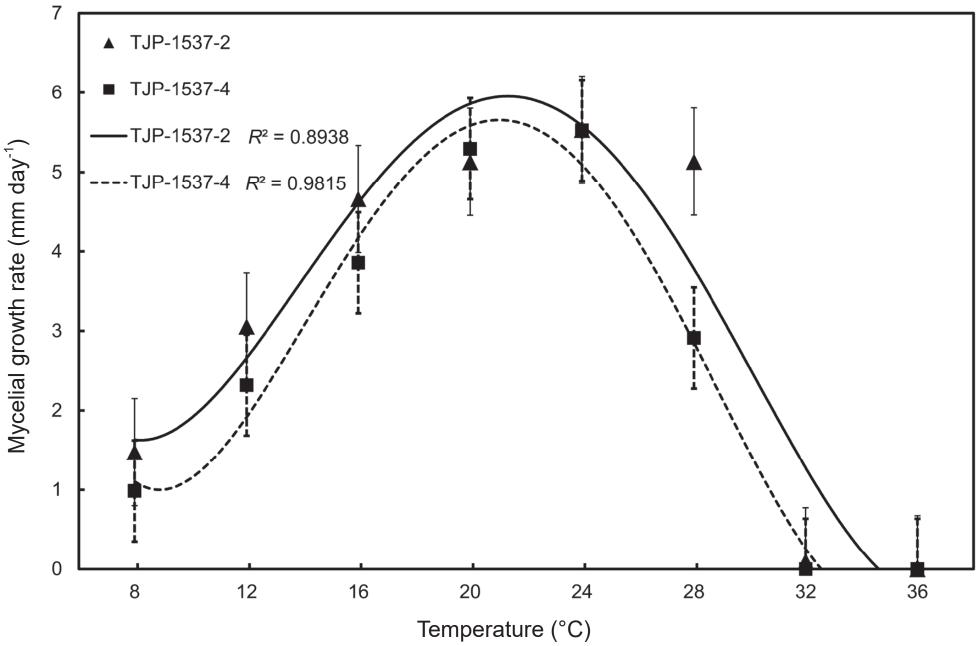

圖 4.　溫度對文心蘭炭疽病菌菌絲生長的影響。

Fig. 4.　Effect of temperature on mycelial growth of *Colletotrichum orchidophilum* TJP-1537-2 and TJP-1537-4 causing anthracnose of *Oncidium* on potato dextrose agar (PDA) plate (error bars indicated 95% confidence interval among temperatures).

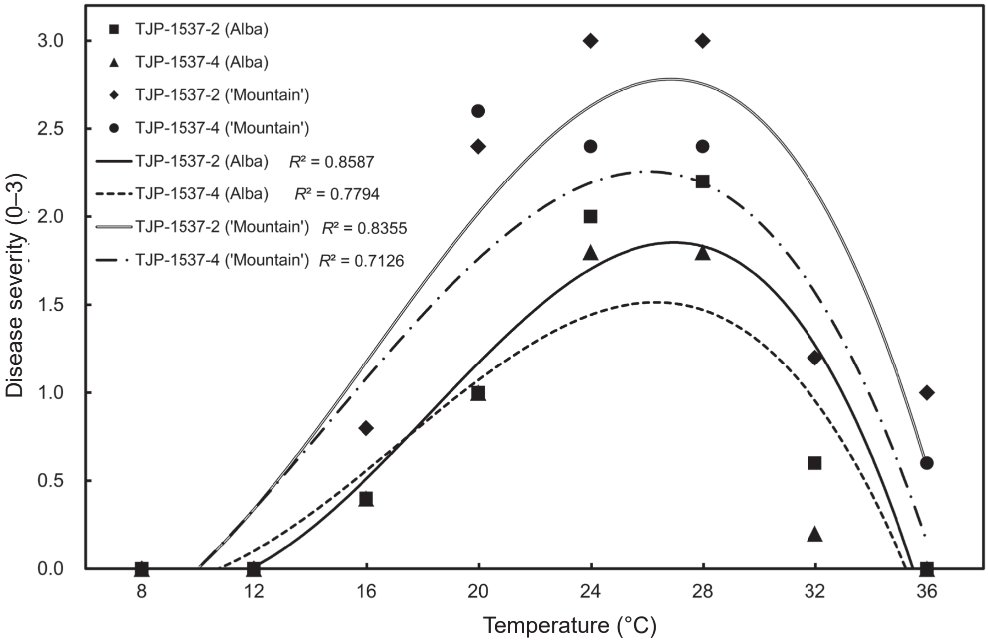

圖 5.　接種後在不同溫度下處理 3 d 對文心蘭炭疽病發病度的影響。

Fig. 5.　Effect of different temperatures on disease severity of *Oncidium* anthracnose caused by *Colletotrichum orchidophilum* TJP-1537-2 and TJP-1537-4 3 d after inoculation.

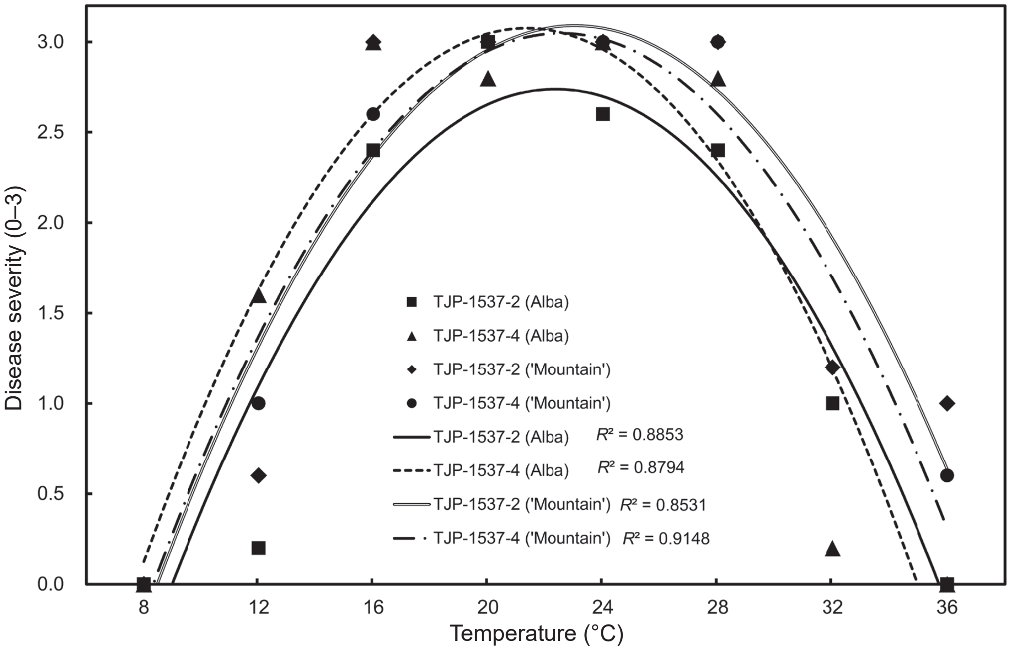

圖 6. 接種後在不同溫度下處理 6 d 對文心蘭炭疽病發病度的影響。

Fig. 6. Effect of different temperatures on disease severity of *Oncidium* anthracnose caused by *Colletotrichum orchidophilum* TJP-1537-2 and TJP-1537-4 6 d after inoculation.

的炭疽病菌依分生孢子的形態，可大致被區分為兩大類：(1) 分生孢子為長橢圓形，例如 *C. acutatum*、*Colletotrichum lagenarium*、*C. musae*、*Colletotrichum lindemuthianum* 及 *C. gloeosporioides*。(2) 分生孢子為新月形，例如 *C. dematium*、*Colletotrichum capsic*、*Colletotrichum falcatum* 及 *Colletotrichum trucatum*。

本研究由田間 2 種蛾形文心蘭 (*Psychopsis kalihii*, 'Green Valley' Alba 及 *Psych. mariposa*, 'Mountain') 的葉片與葉鞘黑色不規則病斑中所分離得到的 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 菌株，其分生孢子呈圓柱形，大小介於 9.9–22.3 μm × 2–2.5 μm，平均大小為 14.1 μm × 2.5 μm，長寬比約 5.6 (圖 1D)。本病原菌的分生孢子型態符合 Damm *et al*. (2012) 所描述的 *C. orchidophilum* strain CBS 631.80，其長寬比值約為 5.1。在 Sutton (1980) 的描述中，*C. gloeosporioides* 的分生孢子為長橢圓形，其孢子長度大於 12 μm，而孢子寬度則小於 4.5 μm，然而 Shi *et al*. (2011) 所描述的檬果炭疽病菌 *C. gloeosporioides* 的分生孢子大小介於 12–16 μm × 6–8 μm 之 間，Carrington *et al*. (2001) 描述造成鋸棕櫚 (saw palmettos) 提早落果的病原菌 *C. gloeosporioides*，其分生孢子大小介於 7.5–17.5 μm × 2.5–3.8 μm 之間。由此觀之，不同寄主來源的 *C. gloeosporioides* 分離株，其分生孢子大小會有些許的差異。Moriwaki *et al*. (2002) 認為，不同來源的炭疽病菌分離株，常因培養條件不同、寄主不同，而造成病原菌分生孢子在型態上的差異，可能導致在鑑定上的誤判，因此需要輔以分子生物技術當作鑑定的依據。本研究將 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 分離株，輔以 rDNA 序列分析與比對，發現 TJP-1537-2 與 TJP-1537-4 與 NCBI 資料庫的 *C. orchidophilum* JQ948153.1 與 JQ948154.1 (GenBank accession number) 達 100% 相似度。根據從菌種保存中心 [Fungal Biodiversity Centre (CBS) 與 International Mycological Institute (IMI)] 培養的菌株與 GenBank 收集的數據資料，*C. orchidophilum* 與 *C. acutatum* species complex 的親緣關係最為密切，因此常用作構建 *C. acutatum* 物種親緣關係樹

(phylogenetic trees) 的參考外群 (Baroncelli *et al*. 2018)。在美國、英國、巴拿馬和中國等國家的紀錄，*C. orchidophilum* 會感染蘭科作物 (Damm *et al*. 2012)，在墨西哥、印度與西南印度洋地區則會感染香莢蘭 (Vanilla) (Charron *et al*. 2018)。

炭疽病的病徵表現受作物種類、品種的不同而有所差異，一般 *C. gloeosporioides* 會在罹病部位 (葉片或果實)，產生淡褐色到暗褐色深淺不一的輪紋病徵，並且在高濕度的環境下，罹病部位會有褐黃色到橙色的分生孢子堆產生 (Ploetz 2004)。然而，桃樹幼苗 (苗期一年) 被 *C. gloeosporioides* 感染後，會出現猝倒 (damping-off) 或萎凋 (wilting) 的病徵 (Yang *et al*. 2011)。柑橘花朵被 *C. gloeosporioides* 感染，則會造成花腐 (blossom blight) 與落果 (fruit drop) 的病徵 (Lima *et al*. 2011)。本研究之文心蘭炭疽病菌 *C. orchidophilum* 則可在蛾形文心蘭盆花葉片 (圖 1A) 與葉鞘 (圖 1B) 上，造成圓形到不規則形的黑色病斑。另外，傷口的產生與環境條件 (如溫度、濕度) 亦會影響炭疽病菌對寄主植物的病徵表現與致病性 (Leandro *et al*. 2003)。Pandey *et al*. (1997) 則在研究番石榴果實炭疽病時，對番石榴果實進行分 3 項處理：(1) 沒有傷口 (uninjured)；(2) 用細砂輕磨果實表面 (sand-injured)；(3) 刺傷果實表面 (punctured)。處理後，將供試果實分別放置在 15、20、25、30、35 及 40℃的定溫箱中。結果在 30℃時番石榴果實炭疽病發病速度最快，其中又以用細砂輕磨果實表面的處理發病最為嚴重，該果實上所產生的病斑數是其他處理的 1.3–2.4 倍。Pandey *et al*. (1997) 認為在印度田間番石榴果實經常受到昆蟲與鳥類的危害，使得炭疽病菌可經由該些傷口感染果實。另外在番石榴生長的季節，大部分栽培地區的風速可達 40–50 km h^{-1}，揚起塵沙在果實表面會產生細微的傷口，加上戶外溫度可達 35–40℃的絕佳發病環境，則造成印度番石榴炭疽病的嚴重發生。本研究新研發鋼珠摩擦接種法 (steel ball rub inoculation)，於供試植株葉表面製造一個直徑 8 mm 的圓形壓痕，將供試菌株孢子懸浮液滴置於圓形壓痕上，接種 3 d 後則可快速完成病原性測定，若供試植株葉表面未製造圓形壓痕，則供試植株不發病 (表 1)。本研究在田間病害調查時發現，埔里地區冬季可能會出現 10℃以下的低溫，經常造成文心蘭植株的寒害，寒害發生時則會在蛾形文心蘭葉片或葉鞘上造成許多輕微透化的小斑點，這些透化的小斑點或許有助於文心蘭炭疽病的發生。而冬天低溫或許會降低炭疽病的發病率，但是只要田間相對濕度介於 53–86% 之間，則仍有助於炭疽病的發生 (Pandey *et al*. 1997)。本研究將接種後的文心蘭離葉組織片段，放置在保濕的玻璃培養皿內，置於不同設定溫度的培養箱中，在低溫的環境下文心蘭炭疽病雖然發病較緩慢 (圖 5)，但是持續一段時間後，文心蘭炭疽病仍會嚴重的發生 (圖 6)。

本研究主要報導蛾形文心蘭炭疽病的發生，雖然病原菌為新鑑定之 *C. orchidophilum*，但是其與 *C. acutatum* species complex 有密切的親緣關係，且僅會感染蘭科作物看來，本病害應可採用與一般作物炭疽病的防治方法，包括避免對植株組織部位造成表皮傷口，使病原菌無法由組織傷口侵入。在栽培管理上，合理化施肥、避免過度遮蔭、注意區域內通風與移除罹病植株等方法，亦有助於本病害的發生。

引用文獻

Ann, P. J. 1995. Phytophthora diseases of orchids in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 4:152–162. (in Chinese with English abstract) doi:10.6649/PPB.199512_4(4).0002

Baroncelli, R., S. A. Sukno, S. Sarrocco, G. Cafà, G. Le Floch, and M. R. Thon. 2018. Whole-genome sequence of the orchid anthracnose pathogen *Colletotrichum orchidophilum*. Mol. Plant Microbe. Interact. 31:979–981. doi:10.1094/MPMI-03-18-0055-A

Carrington, M. E., P. D. Roberts, N. V. R. R. Urs, R. J. McGovern, T. E. Seijo, and J. J. Mullahey. 2001. Premature fruit drop in saw palmettos caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Dis. 85:122–125. doi:10.1094/PDIS.2001.85.2.122

Chang, C. A., Y. S. Tseng, C. C. Chen, and T. C. Deng. 1999. Detection of odontoglossum ringspot tobamo-

virus by DNA probe hybridization and reverse transcription-polymerase chain reaction. Plant Pathol. Bull. 8:29–36. (in Chinese with English abstract) doi:10.6649/PPB.199903_8(1).0005

Charron, C., J. Hubert, J. Minatchy, V. Wilson, F. Chrysot, S. Gerville, R. Ioos, C. Jeandel, and M. Grisoni. 2018. Characterization of *Colletotrichum orchidophilum*, the agent of black spot disease of vanilla. J. Phytopathol. 166:525–531. doi:10.1111/jph.12714

Damm, U., P. F. Cannon, J. H. C. Woudenberg, and P. W. Crous. 2012. The *Colletotrichum acutatum* species complex. Stud. Mycol. 73:37–113. doi:10.3114/sim0010

Howard, C. M., J. L. Maas, C. K. Chandler, and E. E. Albregts. 1992. Anthracnose of strawberry caused by the *Colletotrichum* complex in Florida. Plant Dis. 76:976–981. doi:10.1094/PD-76-0976

Hsieh, S. P. Y. and Y. S. Han. 1975. Virus disease of orchids caused by *Cymbidium mosaic virus* in Taiwan. J. Chinese Soc. Hort. Sci. 21:292–298. (in Chinese with English abstract) doi:10.6964/JCSHS.197511.0292

Hsieh, T. F., Y. C. Chang, and C. C. Tu. 2000. Petal spot of *Oncidium hybridium* caused by *Bipolaria zizaniae*. Plant Pathol. Bull. 9:75–78. (in Chinese with English abstract) doi:10.6649/PPB.200006_9(2).0006

Hsieh, T. F., T. C. Huang, and C. A. Chang. 2005. Phalaenopsis diseases. p.241–252. *in*: Taiwan Agriculture Encyclopedia: Crop Edition-3. Council of Agriculture, Executive Yuan. Taipei, Taiwan. 776 pp. (in Chinese)

Kefialew, Y. and A. Ayalew. 2008. Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). Posthavest Biol. Technol. 50:8–11. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.03.007

Leandro, L. F. S., M. L. Gleason, F. W. Nutter, Jr., S. N. Wegulo, and P. M. Dixon. 2003. Influence of temperature and wetness duration on conidia and appressoria of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. Phytopathology 93:513–520. doi:10.1094/PHYTO.2003.93.4.513

Lima, W. G., M. B. Spósito, L. Amorim, F. P. Gonçalves, and P. A. M. de Filho. 2011. *Colletotrichum gloeosporioides*, a new causal agent of citrus postbloom fruit drop. Eur. J. Plant Pathol. 131:157–165. doi:10.1007/s10658-011-9795-1

Lin, R. S. 2005. Oncidium. p.903–908. *in*: Taiwan Agriculture Encyclopedia: Crop Edition-2. Council of Agriculture, Executive Yuan. Taipei, Taiwan. 926 pp. (in Chinese)

Lin, Y. H., P. J. Lee, W. T. Shie, L. L. Chern, and Y. C. Chao. 2015. *Pectobacterium chrysanthemi* as the dominant causal agent of bacterial soft rot in *Oncidium* "Grower Ramsey." Eur. J. Plant Pathol. 142:331–343. doi:10.1007/s10658-015-0618-7

Moriwaki, J., T. Tsukiboshi, and T. Sato. 2002. Groping of *Colletotrichum* species in Japan based on rDNA sequences. J. Gen. Plant Pathol. 68:307–320. doi:10.1007/PL00013096

Pandey, R. R., D. K. Arora, and R. C. Dubey. 1997. Effect of environmental conditions and inoculum density on infection of guava fruits by *Colletotrichum glososporioides*. Mycopathologia 137:165–172. doi:10.1023/A:1006842801828

Ploetz, R. C. 2004. The major diseases of mango: Strategies and potential for sustainable management. Acta Hortic. 645:137–150. doi:10.17660/ActaHortic.2004.645.10

Shi, X. Q., B. Q. Li, G. Z. Qin, and S. P. Tian. 2011. Antifungal activity and possible mode of action of borate against *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. Plant Dis. 95:63–69. doi:10.1094/PDIS-06-10-0437

Su, C. C. and L. S. Leu. 1992. Soft rot of *Oncidium* "Gower Ramsey" and *Cymbidium* sp. caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Plant Pathol. Bull. 1:190–195. (in Chinese with English abstract). doi:10.6649/PPB.199212_1(4).0005

Su, J. F., Y. C. Lee, C. W. Chen, J. H. Huang, and T. F. Hsieh. 2012. Field surveys for *Fusarium* diseases of Phalaenopsis in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 21:115–130. (in Chinese with English abstract)

Su, Y. Y., P. Noireung, F. Liu, K. D. Hyde, M. A. Moslem, A. H. Bahkali, K. A. Abd-Elsalam, and L. Cai. 2011. Epitypification of *Colletotrichum musae*, the causative agent of banana anthracnose. Mycoscience 52:376–382. doi:10.1007/S10267-011-0120-9

Sutton, B. C. 1980. The Coelomycetes: Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute. Surrey, UK. 696 pp.

Sutton, B. C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. p.1–26. *in*: *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. (Bailey, J. A. and M. J. Jeger, eds.) CAB International. Wallingford, UK. 388 pp.

Tzean, S. S., K. C. Tzeng, C. A. Chang, T. T. Tsay, and H. F. Yen. 2019. List of Plant Diseases in Taiwan. 5th ed. Taiwan Phytopathological Society. Taichung, Taiwan. 329 pp. (in Chinese)

Yang, C. H., X. G. Li, and T. Liang. 2011. Symptoms and pathogenic biological characteristics of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on peach seedling. Guizhou Agr. Sci. 5:128–130. (in Chinese

with English abstract)

Yih, M. S. 2012. Oncidium. p.137–146. *in*: The Proceedings of Exporting Crop Industry in Central Taiwan. Taichung District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan. Taichung, Taiwan. 160 pp.

The Occurrence of *Psychopsis* Anthracnose Caused by *Colletotrichum orchidophilum* in Taiwan

Jiunn-Feng Su[1], Pei-Hung Lai[2], Lan-Yi Chien[2], Jin-Hsin Huang[3], Tsung-Chun Lin[1], and Ting-Fang Hsieh[4,*]

Abstract

Su, J. F., P. H. Lai, L. Y. Chien, J. H. Huang, T. C. Lin, and T. F. Hsieh. 2023. The occurrence of *Psychopsis* anthracnose caused by *Colletotrichum orchidophilum* in Taiwan. J. Taiwan Agric. Res. 72(1):25–37.

The field surveys were conducted at Puli Township, Nantou County in February and July 2012. Both of the oncidium cultivars Alba (*Psychopsis kalihii*, 'Green Valley') and 'Mountain' (*Psych. mariposa*) showed black spot with circular to irregular on leaves and sheath parts of diseased plants. The disease incidences were up to 42–63% in field surveys. The colony characteristics of fungi isolates from diseased plants showed gray to dark color with abundant pinkish conidia mass on 1/2 sucrose of potato dextrose agar. The conidia are cylindrical with the size ranges of 2–2.5 μm × 9.9–22.3 μm. After following Koch's postulates to make sure the pathogenicity, two isolates of TJP-1537-2 and TJP-1537-4 were chosen and submitted for further molecular identification by using sequence comparison of internal transcribed spacer (ITS) of ribosomal DNA. The pathogen causing the new recorded *Psychopsis* anthracnose was identified as *Colletotrichum orchidophilum* Damm, Cannon & Crous. Optimum temperatures for mycelial growth of pathogen ranged from 20 to 24℃, and the growth rates ranged from 5.1 to 5.6 mm day^{-1}. Optimum temperatures for disease development ranged from 16 to 28℃.

Key words: *Psychopsis*, *Colletotrichum orchidophilum*, anthracnosec.

Received: May 26, 2022; Accepted: October 14, 2022.
[*] Corresponding author, e-mail: tfhsieh@tari.gov.tw
[1] Assistant Research Fellows, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.
[2] Project Assistants, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.
[3] Associate Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.
[4] Research Fellow and Chief Secretary, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.